

秈稻抗白葉枯病新品系之研發¹

楊嘉凌²、鄭佳綺³、吳以健³

摘要

水稻白葉枯病(Bacterial blight, BB)係由 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 引起的細菌性病害，目前是臺灣稻作主要流行病害之一。水稻台中秈 10 號(*Oryza sativa* ssp. *indica* cv Taichung Sen 10, TCS10)係政府唯一推薦具有優良食味且高產的秈稻推廣品種，惟容易因感染白葉枯病而減損品質與產量。為改善TCS10 抗白葉枯病能力，本試驗引進國際稻米研究所(International Rice Research Institute, IRRI)培育帶有抗病基因的 19 個近同源系材料，首先進行接種白葉枯病菌株的檢定，發現帶有 2 個以上抗病基因之材料多具有良好抗性，尤其 IRBB50、IRBB54、IRBB62、IRBB64-66 等 6 個材料對白葉枯病具有相當優異的抗性。同時本試驗建立 TCS10(輪迴親)與帶有 3 個基因(*Xa4/Xa7/Xa21*)的 IRBB62(貢獻親)之雜交組合，並運用分子標誌輔助進行回交 3 次導入抗病基因。自 F₁ 至 BC₃F₂ 世代皆利用前景篩選檢測具有抗病基因之個體，自 600 株的 BC₃F₂ 族群檢測帶有 3 個抗病基因之 17 株個體呈現抗病型同質結合。經連續 4 期作接種菌株評估此 17 個近同源系，確實具有優異且穩定的抗病表現，且農藝特性與輪迴親 TCS10 相近。進一步選擇 4 個新品系提送秈稻區域試驗評估，顯示此 4 個品系皆表現優異抗性，其中的中秈育 062039 號具有可命名新品種及提供稻米產業運用的潛力。

關鍵詞：水稻台中秈10號(TCS10)、白葉枯病、抗性基因、分子輔助選種

前　　言

近年氣候變遷造成之極端氣候(高溫、大雨、乾旱等)於全球各地頻繁發生，造成作物生產面臨困境，各國針對氣候變遷影響稻作生產的因應策略無不極力尋求解決之道。水稻白葉枯病(Bacterial blight, BB)係臺灣稻作主要流行病害之一，近年來兩期作普遍發生，一般以第二期作危害較嚴重。本病害在氣溫25-35°C時較易發生，高溫高濕環境有利病原菌繁殖，強風使病葉與鄰近的葉片磨擦造成傷口有助於病菌侵入，若遇大風雨吹打則病菌可隨雨滴飛濺擴散造成流行性病害。每年發生本病害的稻田將近2萬公頃，發病面積有逐年增加的趨勢^(2,10,12)。水稻感染白葉枯病，由秧苗期枯萎至

¹行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 0993 號。

²行政院農業委員會臺中區農業改良場研究員兼農業推廣課課長。

³行政院農業委員會臺中區農業改良場助理研究員。

分蘖盛期造成葉片枯白等症狀，可造成20至50%產量的損失^(17,24)，顯示白葉枯病對稻作產業的影響甚鉅。白葉枯病病原菌(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*)有許多生理小種之變異，使得針對外表型抗病植株的田間選拔效果並不穩定。目前國內主要水稻推廣品種一般對白葉枯病並無良好的抗性，主要係育種時缺乏可貢獻抗病性的親源材料，致臺中區農業改良場(以下稱本場)多年進行白葉枯病圃檢定結果，較少發現有較佳抗性的材料⁽¹¹⁾。張及謝(1999)指出抗病品種的抗病基因與病原菌間存在專一性關係，表示抗病育種具有防治水稻白葉枯病的效果⁽⁹⁾。

抗病育種首重抗病基因的存在，惟水稻對白葉枯病菌具有成株抗病性現象，罹病反應隨水稻不同生育期而改變，稻株於幼苗可能未表現抗病性⁽³⁶⁾。目前發現針對水稻白葉枯病的抗性基因有 40 個以上^(20,24)，能開發與抗性基因連鎖之分子標誌，有助提早以分子標誌輔助方式進行選育^(1,7)。國際稻米研究所(IRRI)利用具有抗性基因的 IR20、IR1545-339、BJ1 及西非野生稻(*Oryza longistamine*)等材料，與感病品種 IR24 回交育成以 IR24 為遺傳背景的抗白葉枯病近同源系(Near isogenic lines, NILs)，分別為 IRBB4、IRBB5、IRBB13 及 IRBB21⁽¹⁷⁾，並進一步育成具有多個抗性基因(*xa5/xa13/Xa21*)的品系，成功運用分子輔助選種將抗性基因導入秈稻品種 PR106⁽³⁰⁾。印度利用 IRBB 55 為抗性基因貢獻親，結合外表型評估與分子輔助選種的回交育種，將抗性基因導入受歡迎的 Basmati 型態之香米品種 Pusa Basmati-1⁽²¹⁾。臺灣稻作團隊近年與 IRRI 合作並引進具有抗病基因的材料，目標是將主要抗病的 *Xa7* 及 *Xa21* 基因導入栽培品種⁽¹⁰⁾，惟導入抗性基因的品系材料仍需田間接種白葉枯病菌株以驗證抵抗性。國立中興大學農藝學系王強生教授團隊即利用 IRBB66 分別與臺灣梗稻品種頗負盛名的台梗 9 號及台南 11 號，進行分子標誌輔助回交育種而成功導入抗白葉枯病基因⁽⁷⁾，並於 2018 年將前述改良抗病性的新品種分別發表為「興大 9 號」及「興大 11 號」(國立中興大學興新聞 2018.11.14)。

水稻台中秈 10 號(TCS10)係 1979 年命名品種，至今仍為政府唯一推薦的秈稻良質米推廣品種，惟其並不抗白葉枯病。目前全球已有許多利用分子標誌並輔以回交操作導入抗病基因，育成具有優異抗病性的品種^(17,21,32)。國內針對本病害之分子輔助抗病育種，僅見前述中興大學針對梗稻進行抗病品種的研究。因此，本研究應是有關臺灣秈稻抗病分子育種之首例報導。本研究利用 IRRI 育成帶有不同抗性基因之近同源系材料，進行接種本土白葉枯病菌株之檢定，進而選擇具有優良抗性的 IRBB62 作為貢獻親，利用雜交、回交將抗病基因導入 TCS10 品種，建立具有抗病基因的近同源系，於白葉枯病檢定圃進行接種檢定，並進行農藝特性的表現評估，以篩選兼具優異抗性與農藝性狀表現之新品種予產業運用。

材料與方法

引進 IRRI 帶有不同白葉枯病抗性基因材料的檢定表現

一、試驗材料

本試驗材料係利用 2012 年引進 IRRI 的 IRBB04 等 19 個近同源系及對照感病品種台中在來 1 號(Taichung native 1, TN1)(表一)，IRBB 材料係 IRRI 於 1980 年代以 IR24 為輪迴親，陸續利用具有優異抗病材料為貢獻親進行回交，獲得導入帶有不同抗性基因之IR24 近同源系。本試驗中的 IRBB04 係來自 IR20 導入 *Xa4* 基因之材料，IRBB05 係由 IR1545-339 導入 *xa5* 基因之材料，IRBB07 係來自 DV85 導入 *Xa7* 基因之材料，IRBB08 係由 PI231129 導入 *xa8* 基因之材料，IRBB11 則來自 IR8 導入 *Xa11* 基因之材料⁽²⁸⁾。IRBB13 係由 BJ1 導入 *xa13* 基因之材料，IRBB14 係來自 TN1 導入 *Xa14* 基因之材料，IRBB21 係導入 *O. longistaminata* 帶有 *Xa21* 基因之材料⁽²³⁾。IRBB50 係聚合 *Xa4/xa5* 基因之材料⁽³⁵⁾；IRBB51 帶有 *Xa4/xa13* 基因，IRBB54 聚合 *xa5/Xa21* 基因。IRBB57 堆疊 *Xa4/xa5/Xa21* 基因，IRBB60 帶有 *Xa4/xa5/xa13/Xa21* 基因，IRBB61 帶有 *Xa4/xa5/Xa7* 基因，IRBB62 帶有 *Xa4/Xa7/Xa21* 基因，IRBB63 帶有 *xa5/Xa7/xa13* 基因，IRBB64 帶有 *Xa4/xa5/Xa7/Xa21* 基因，IRBB65 帶有 *Xa4/Xa7/xa13/Xa21* 基因，IRBB66 則帶有 *Xa4/xa5/Xa7/xa13/Xa21* 等 5 基因^(17,19)。感病品種 TN1 係國內長年進行白葉枯病檢定圃的對照品種。

表一、帶有不同抗白葉枯病基因之近同源系

Table 1. The near isogenic lines with different resistant gene(s) to bacterial blight

Line	Gene	Line	Gene	Line	Gene
IRBB04	<i>Xa4</i>	IRBB21	<i>Xa21</i>	IRBB62	<i>Xa4/Xa7/Xa21</i>
IRBB05	<i>xa5</i>	IRBB50	<i>Xa4/xa5</i>	IRBB63	<i>xa5/Xa7/xa13</i>
IRBB07	<i>Xa7</i>	IRBB51	<i>Xa4/xa13</i>	IRBB64	<i>Xa4/xa5/Xa7/Xa21</i>
IRBB08	<i>xa8</i>	IRBB54	<i>xa5/Xa21</i>	IRBB65	<i>Xa4/Xa7/xa13/Xa21</i>
IRBB11	<i>Xa11</i>	IRBB57	<i>Xa4/xa5/Xa21</i>	IRBB66	<i>Xa4/xa5/Xa7/xa13/Xa21</i>
IRBB13	<i>xa13</i>	IRBB60	<i>Xa4/xa5/xa13/Xa21</i>	TN1	Control
IRBB14	<i>Xa14</i>	IRBB61	<i>Xa4/xa5/Xa7</i>		

二、試驗方法：白葉枯病檢定

- (一)露天試驗：於 2014 及 2015 年在本場水稻試驗田進行 2 年 4 期作的試驗，參試材料順序排列，每材料種植 4 行，每行 10 株，單本植，2 重複。
- (二)溫室試驗：於 2014 年在本場水稻溫室進行 2 個期作的試驗，參試材料種植於試驗盆，每盆單本種植 3 株，每材料種植 6 盆(3 株菌株×2 重複)，以完全隨機設計(CRD)排列於溫室。
- (三)接種菌株：謝等(2005)發現以 30 天苗期接種菌株之平均罹病指數最高，亦具成株抗病性的現象，且若採用旱田病圃之抗病性檢定，以苗期 45-60 天為最適接種期⁽¹³⁾。本研究以農業試驗所(以下稱農試所)提供之 3 株白葉枯病菌株，於分蘖盛期(移植後 50-60 天)將剪刀沾菌液以剪葉法接種每株稻葉，每行或每盆分別接種不同菌株。參照IRRI 制定白葉枯病害之判別標準⁽¹⁸⁾，依病斑占葉片面積之比例，調查罹病程度並記錄其抗感性反應(圖一)。因臺灣尚未有完整之生理小種分群，以往農試所提供的菌株多係當時致病較強的菌株^(5,6)，1994-2002

年係接種 XM42 及 XF81，2003-2012 年係接種 XM42 及 XF89b。本試驗 2014 年的露天與溫室試驗係接種 XF89b、XE12 及 XG91 等，惟該等菌株對檢定材料之致病力有弱化趨勢，似不足以代表流行菌株(個人通訊)，因此農試所自 2015 年提供 XE2、XF116 及 XF135 等菌株進行接種檢定。

(四)抗感性調查：每材料均分別接種菌株(露天試驗接種 8 株、溫室試驗接種 6 株)，接種菌株 3 週後或對照感病品種 TN1 達中感(moderately susceptible, MS)等級時，調查接菌稻株至少 5 株，包括每株接菌葉片罹病長度(lesion length)、罹病病斑面積占全葉面積之百分比(diseased leaf area %, DLA%)及罹病等級(scale)，判定罹病等級以罹病最嚴重葉片等級為準。DLA 介於 1-5%，判定等級 1 的抗(resistant, R)級；介於 6-12%，判定等級 3 的中抗(moderately resistant, MR)級；介於 13-25%，判定等級 5 的中感(MS)級；介於 26-50%，判定等級 7 的感(susceptible, S)級；達 51%以上，判定等級 9 的極感(highly susceptible, HS)級(表二)。

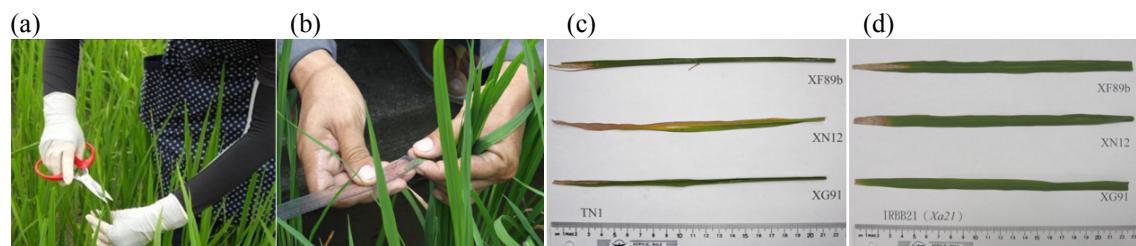
表二、水稻白葉枯病罹病反應之判定

Table 2. The evaluation of disease reaction to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*¹

% infection ²	Scale	Code symbol
No symptom observed	0	HR (highly resistant)
1-5	1	R (resistant)
6-12	3	MR (moderately resistant)
13-25	5	MS (moderately susceptible)
26-50	7	S (susceptible)
51-100	9	HS (highly susceptible)

¹The evaluation followed as the Standard Evaluation System of IRRI⁽¹⁸⁾.

²Shown as the percentage of DLA (diseased leaf area / total leaf area) after inoculation.



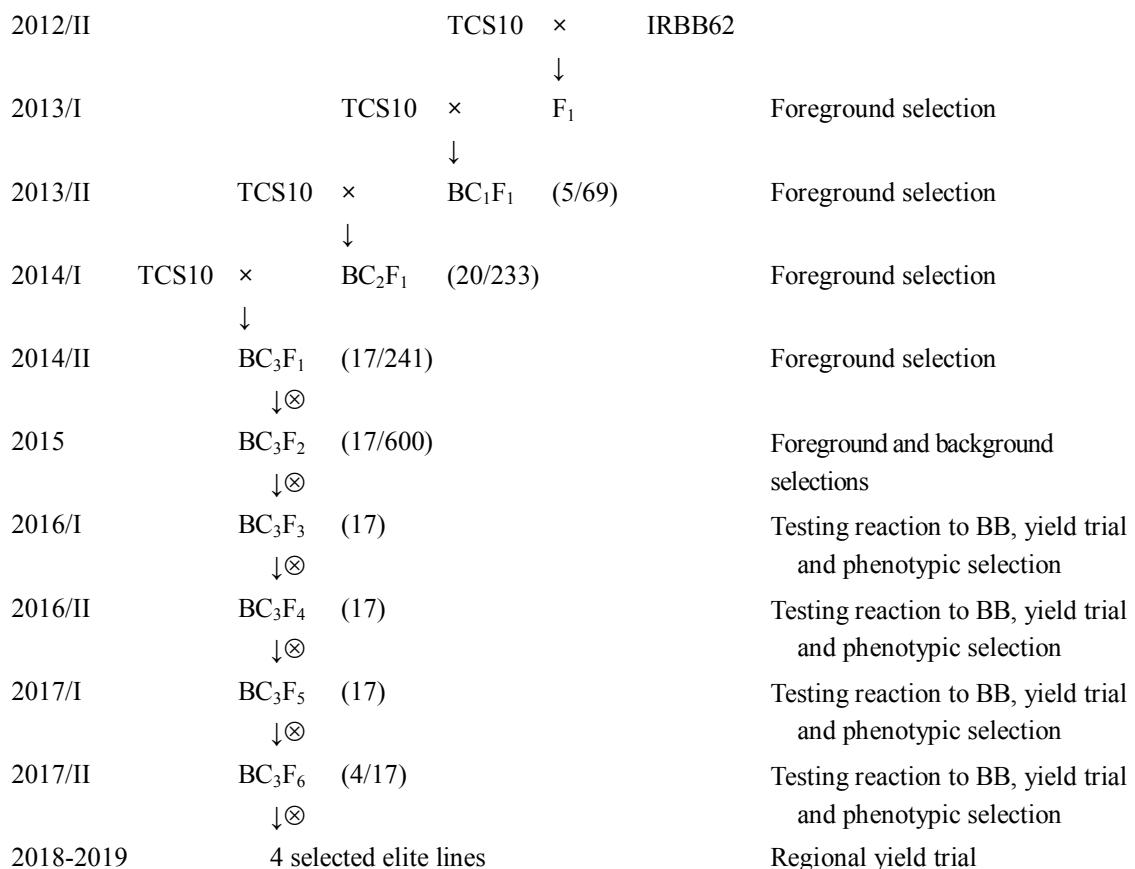
圖一、白葉枯病之抗性檢定評估。(a)剪葉接種菌株，(b)接種 14-21 天後量測罹病葉長度，(c)感病品種台中在來 1 號的罹病反應及(d)抗病材料 IRBB21 的罹病反應。

Fig. 1. The evaluation of resistance to bacterial blight. (a) leaf-clipping inoculation, (b) lesion length at 14-21 days after inoculation, (c) the symptom of the susceptible variety TN1, and (d) the symptom of the resistant variety IRBB21.

導入抗病基因新品系之抗感性檢定與其農藝特性的表現

一、試驗材料

本試驗利用 TCS10×IRBB62 雜交組合之回交世代為材料，TCS10 糜臺灣優良秈稻品種，於 1979 年命名及推廣，至今仍為政府唯一推薦的軟秈品種，其具有豐產、米質優良的特性，惟並不抗白葉枯病，常受到減產或米質受損。IRBB62 糜帶有 3 個抗病基因(*Xa4/Xa7/Xa21*)的近同源系。本試驗於 2012 年 2 期作進行種植與雜交，以 TCS10 為輪迴親並逐代完成 BC₁、BC₂ 及 BC₃ 等世代，每一回交世代之 F₁ 個體皆以分子標誌篩選具有 3 個基因者，再進行下一世代回交，本試驗材料之育種流程如圖二所示。



圖二、利用分子輔助選拔帶有抗性基因新品系的育種流程。

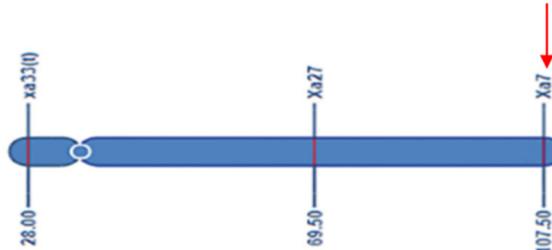
Fig. 2. Breeding scheme of the new rice lines with resistance genes by marker-assisted selection.

二、試驗方法

(一)抗病基因之前景選拔及遺傳背景分析

本試驗擬將貢獻親 IRBB62 帶有的 3 個抗性基因導入 TCS10，雜交組合各回交世代抗病基因之前景選拔，係委請本場生物技術與農產加工研究室進行。各回交世代之 F_1 種子以單粒播種培育於 96 孔塑膠盤，於 3 葉齡採樣，分別剪下各個單株 3 cm 的葉片組織，萃取 Genomic DNA 後進行 PCR 反應。 $Xa7$ 與 $Xa4$ 、 $Xa21$ 抗病基因係分別位於第 6 號與第 11 號染色體⁽²⁹⁾(圖三)，本試驗利用針對不同抗病基因之分子標誌及引子序列(表三)進行前景篩選檢測，選拔具有 3 個抗病基因之單株個體為父本，並回交輪迴親 TCS10，依此流程逐代回交 3 次。2015 年由 BC_3F_2 族群 600 株個體，經前景篩選檢測帶有 3 個抗病基因且呈現抗病型同質結合之 17 株個體。獲選 17 株個體之遺傳背景分析係採用限制酶切割位點標定片段定序法(restriction site-associated DNA sequencing, RAD-seq)，將製備完成的 RAD 定序圖書庫，委請國立陽明大學基因體研究中心進行 Illumina HiSeq 2,000 之次世代核酸定序，以完成 SNP 探勘與定型⁽⁸⁾。輪迴親回復率與同質結合率之計算方式⁽⁸⁾：若基因組中一基因座輪迴親基因型皆為 AA，貢獻親皆為 BB，異質結合為 AB，則後裔染色體上 AA 的數量為 a 個位點，BB 的數量為 b 個位點，AB 的數量為 h 個位點，則回復率 = $(a+0.5*h)/(a+b+h)$ ，同質結合率 = $(a+b)/(a+b+h)$ ，再各自乘以 100%。

(a) Chr.6



(b) Chr.11

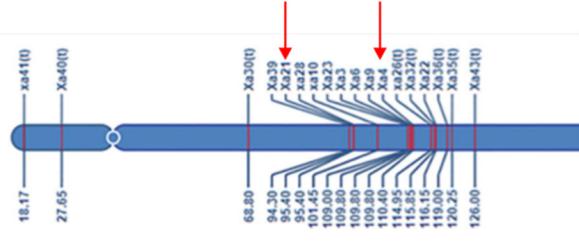
圖三、 $Xa7$ 與 $Xa4$ 、 $Xa21$ 分別位於第 6 號(a)與第 11 號(b)染色體位置。(引自 Pradhan 等，2020)

Fig. 3. Physical position of $Xa7$ and $Xa4$ 、 $Xa21$ genes on the Chr. 6(a) and Chr.11(b) of rice, respectively.

(cited from Pradhan et al., 2020)

表三、用於分子標誌輔助選拔抗白葉枯病基因的分子標誌與引子序列

Table 3. The markers used for marker-assisted selection for resistance genes of bacterial blight

Gene	Linked Marker	Primer sequence	Chromosome	Reference
<i>Xa4</i>	MP1+MP2	F-5'-ATCGATCGATCTCACGAGG-3'	11	Ma <i>et al.</i> , 1999; Arif <i>et al.</i> , 2008
		R-5'-TGCTATAAAAGGCATTGGG-3'		
<i>Xa7</i>	RM20580	F-5'-AACTCCTTCAGGCTTCAGC-3'	6	Chen <i>et al.</i> , 2008
		R-5'-TTCACTGAGCCTGAACACATTGC-3'		
<i>Xa21</i>	pTA248	F-5'-AGACGCGGAAGGGTGGTCCCGGA-3'	11	Williams <i>et al.</i> , 1996
		R-5'-AGACCGGTAAATCGAAAGATGAAA -3'		

(二)接種檢定表現

利用已建立導入抗性基因的 17 個 BC_3F_3 系統(CSBB62-1-CSBB62-17)及對照 TCS10 為材料，於 2016-2017 年在本場水稻試驗田進行 2 年 4 期作(BC_3F_3 - BC_3F_6)的試驗。利用農試所提供之本土菌株(XE2、XF116 及 XF135)進行接種，評估參試材料之抗感性，並逐代選拔優良單株做為下一期作檢定材料。本試驗檢定 17 個系統之抗感性及評估農藝特性與稻穀產量表現(下一節)後，從中擇優並另取編號提送 4 個品系(CSY062036、CSY062039、CSY062041 及 CSY062044)參與 2018 年秈稻區域試驗，並與其他試驗場所之育種材料同時進行接種檢定，2018 年度利用 XE2、XF116、XF135 及 XG91 共 4 株菌株進行接種檢定。接種檢定流程及抗感性判定標準如前節所述，材料順序排列，單本植，2 重複，4 行區，每行 10 株，於分蘖盛期接種菌株 3 週後或對照 TCS10 達 MS 等級時進行調查。

(三)導入抗病基因系統的農藝特性及產量表現

利用已建立導入抗性基因的 17 個系統及對照 TCS10 為材料，於 2016-2017 年在本場水稻試驗田進行 2 年 4 期作(BC_3F_3 - BC_3F_6)的農藝特性評估及產量比較試驗。田間採逢機完全區集設計，單本植，3 重複，4 行區，每小區至少 40 株，依水稻慣行農法進行栽培管理。成熟期於各小區逢機收穫 3 株進行產量構成因素調查，最後將剩餘稻株收割脫粒、烘乾並稱取乾穀重量，依行株距及株數估算產量。

結 果

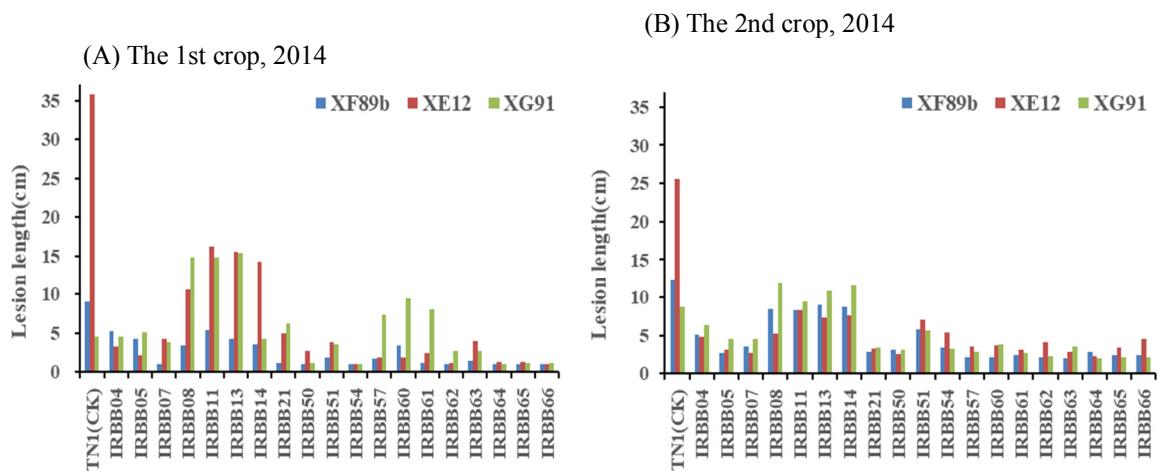
引進 IRRI 帶有不同抗性基因材料的檢定表現

2014 年第 1 期作露天試驗接種白葉枯病菌株調查各材料罹病葉之長度結果，顯示參試材料對接種 XE12 及 XG91 兩菌株的罹病較明顯，XE12 對 TN1、IRBB08、IRBB11、IRBB13 及 IRBB14 等材料之罹病葉長度明顯較長(介於 11-36 cm);XG91 對 IRBB08、IRBB11、IRBB13、IRBB57、IRBB60 及 IRBB61 等材料明顯致病(介於 7-15 cm)；對 XF89b 之反應，除對照 TN1 的罹病葉達 9 cm 較長

外，其餘材料介於 1-5 cm 的輕微罹病(圖四 A)。第 2 期作調查結果，亦發現 TN1、IRBB08、IRBB11、IRBB13 及 IRBB14 等材料對接種 3 株菌株之罹病葉較長(圖四 B)，其中 TN1 接種 XE12 菌株之罹病長度達 25 cm。

為避免露天檢定受田間環境的影響，2014 年利用同樣材料另進行溫室接種檢定。第 1 期作結果發現材料對接種 XF89b 及 XG91 兩菌株的罹病較明顯，XF89b 明顯造成 TN1、IRBB04、IRBB05、IRBB08、IRBB11、IRBB13 及 IRBB14 等材料罹病(介於 22-40 cm)；XG91 對 TN1、IRBB04、IRBB07、IRBB08、IRBB11、IRBB13、IRBB21 及 IRBB51 等材料明顯致病(介於 15-59 cm)；對 XE12 的反應，僅對照 TN1 罹病葉長達 18 cm，其餘材料則介於 1-9 cm 的輕微罹病(圖五 A)。第 2 期作檢定結果發現 XG91 對 TN1、IRBB08、IRBB11、IRBB13 及 IRBB51 等材料明顯致病(介於 13-42 cm)，對 XF89b 的反應，僅對照 TN1 的罹病較明顯，罹病葉長度達 25 cm，其餘材料則介於 1-10 cm 的輕微罹病(圖五 B)。

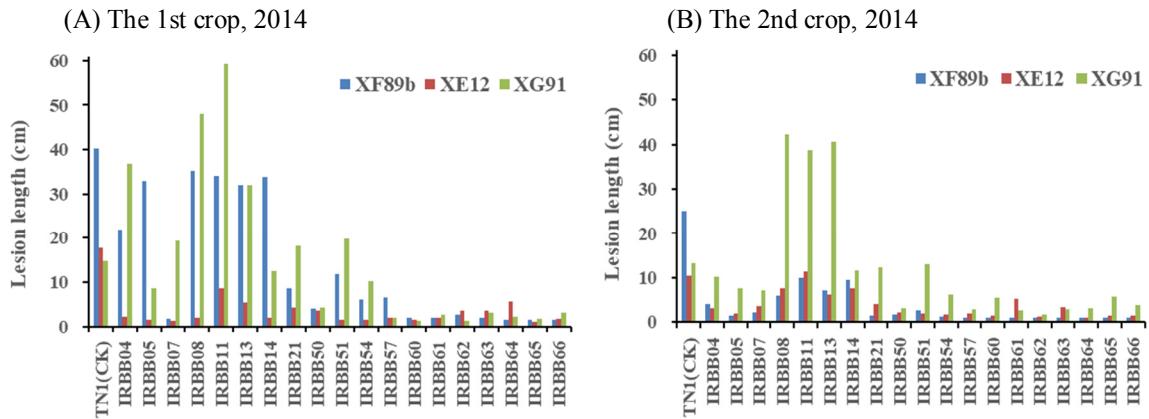
2015 年同樣以 2014 年材料進行田間接種檢定，惟農試所提供之菌株改為 XE2、XF116 及 XF135 進行接種，參試材料接種菌株之罹病結果相較 2014 年並不明顯。第 1 期作檢定結果顯示 TN1、IRBB08、IRBB11 及 IRBB13 等 4 個材料罹病情形仍較其他材料明顯(圖六 A)。第 2 期作檢定結果，發現僅對照 TN1 的罹病最為明顯，對 3 株菌株之罹病葉長度皆達 10 cm 以上(圖六 B)。



圖四、IRRI 具抗性基因材料 2014 年接種白葉枯病菌株之田間檢定表現。(A) 1 期作，(B) 2 期作，資料係 5 株罹病葉長度的平均。

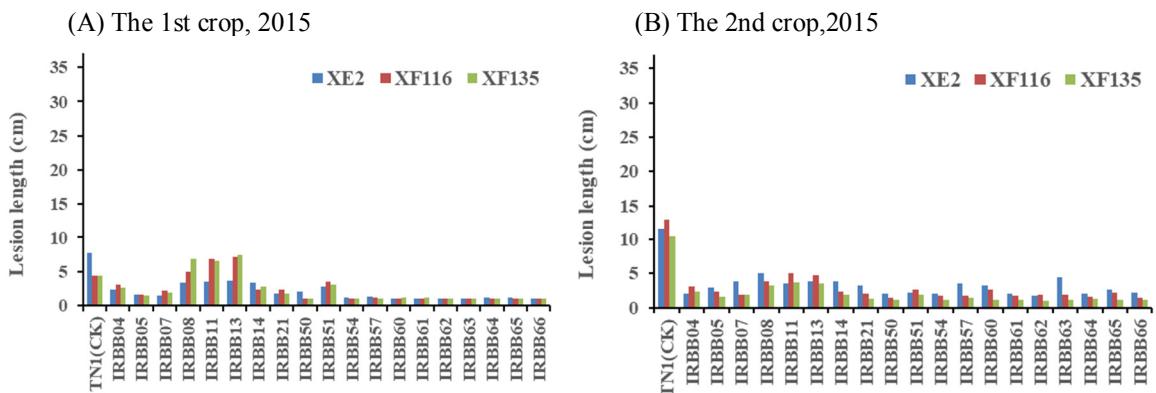
Fig. 4. The performance of IRRI's lines tested by 3 strains of bacterial blight in the field 2014. (A) 1st crop, (B) 2nd crop. Lesion length shown as the average of 5 inoculated plants.

籼稻抗白葉枯病新品系之研發



圖五、IRRI 具抗性基因材料 2014 年接種白葉枯病菌株之溫室檢定表現。(A) 1 期作，(B) 2 期作，資料係 5 株罹病葉長度的平均。

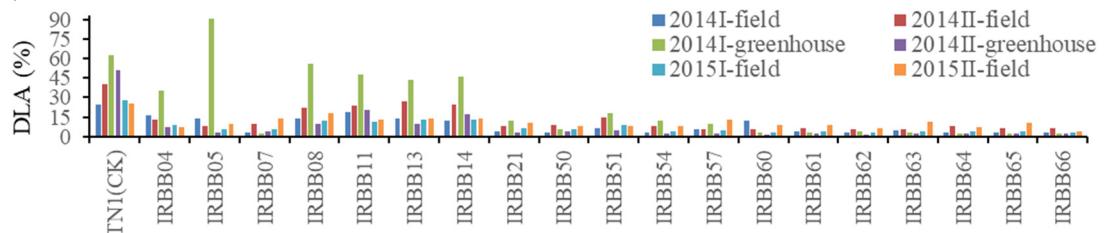
Fig. 5. The performance of IRRI's lines tested by 3 strains of bacterial blight in greenhouse 2014. (A) 1st crop, (B) 2nd crop. Lesion length shown as the average of 5 inoculated plants.



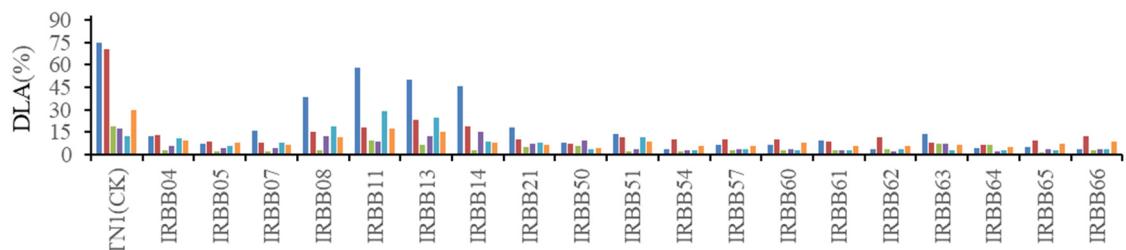
圖六、IRRI 具抗性基因材料 2015 年接種白葉枯病菌株之田間檢定表現。(A) 1 期作，(B) 2 期作，資料係 5 株罹病葉長度的平均。

Fig. 6. The performance of IRRI's lines tested by 3 strains of bacterial blight in the field 2015. (A) 1st crop, (B) 2nd crop. Lesion length shown as the average of 5 inoculated plants.

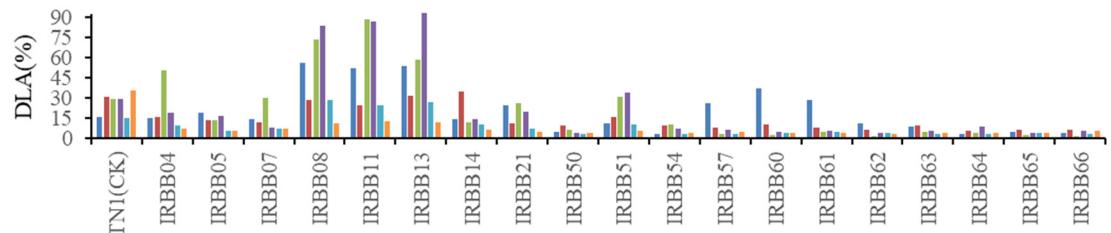
(A) The strain XF89b in 2014 and XE2 in 2015



(B) The strain XE12 in 2014 and XF116 in 2015



(C) The strain XG91 in 2014 and XF135 in 2015



圖七、IRRI 具抗性基因材料對接種白葉枯病菌株之罹病面積率表現。(A) 2014、2015 年分別接種 XF89b、XE2 菌株，(B) 2014、2015 年分別接種 XE12、XF116 菌株，(C) 2014、2015 年分別接種 XG91、XF135 菌株。

Fig. 7. DLA(%) performance of IRRI's lines inoculated with *Xoo* strains. (A) *Xoo* XF89b and XE2 in 2014 and 2015, respectively; (B) *Xoo* XE12 and XF116 in 2014 and 2015, respectively and (C) *Xoo* XG91 and XF135 in 2014 and 2015, respectively.

參試材料每期作均接種 3 株菌株，經 6 次接菌(露天 4 個期作與溫室 2 個期作)共調查 18 次罹病面積率(DLA%)。由圖七(A)接種 XF89b 菌株的結果，可知 TN1、IRBB05 及 IRBB08 等材料於 2014 年第 1 期作溫室檢定之 DLA(%)分別為 62、91 及 56，依本試驗判定標準(表二)，前述 3 個材料均呈現等級 9 的 HS 反應(DLA>51%)。因此，綜觀圖七(A)之結果，IRBB07、IRBB21、IRBB50、IRBB54、IRBB57 及 IRBB60-66 等材料於 6 次(期作)接菌之平均等級表現介於 1.3-2.3，呈現相當良好的 R 級反應；由圖七(B)接種 XE12 菌株的結果，可知 TN1、IRBB11 及 IRBB13 於 2014 年第 1 期作露天檢定之 DLA(%)分別為 75、58 及 51，判定皆呈現等級 9 的 HS 反應。同樣檢視圖七(B)之結果，IRBB05、

IRBB50、IRBB54、IRBB57、IRBB60-62 及 IRBB64-66 等材料於 6 次接菌之平均等級表現介於 1.7-2.3，呈現 R 級的反應；由圖七(C)接種 XG91 菌株的結果，可知 IRBB08、IRBB11 及 IRBB13 於 2014 年第 2 期作溫室檢定之 DLA(%)分別為 84、87 及 98，且於 2014 年第 1 期作露天與 2014 年第 1 期作溫室接種之 DLA 結果均超越 51%，判定皆為等級 9 的 HS 反應。綜觀圖七(C)之結果，IRBB50、IRBB54、IRBB60 及 IRBB62-66 等材料之平均等級表現介於 1.3-2.0，呈現 R 級的反應。就整體而言，發現 IRBB50、IRBB54、IRBB62 及 IRBB64-66 等 6 個材料皆穩定呈現較其他材料甚微的罹病反應，顯示具有相當良好的抗病性，而 TN1、IRBB08、IRBB11、IRBB13 及 IRBB14 等材料多呈現明顯之 DLA，表示容易受到白葉枯病的影響。

導入抗病基因新品系之抗感性檢定與其農藝特性的表現

一、導入系之前景與背景篩選

本試驗利用 TCS10 × IRBB62 雜交組合進行 BC₁-BC₃ 等世代之回交，輪迴親 TCS10 並不抗白葉枯病，貢獻親 IRBB62 係堆疊 3 個抗病基因(*Xa4/Xa7/Xa21*)之近同源系。每回交世代 F₁ 個體皆利用 MP1 與 MP2、RM20580 及 pTA248 等分子標誌進行前景篩選，分別檢測 *Xa4*、*Xa7* 及 *Xa21* 等抗病基因，篩選具有 3 個抗病基因之個體以作為回交輪迴親之用。2013 年 2 期作檢測 69 株的 BC₁F₁，獲選 5 株進行回交；2014 年 1 期作篩檢 233 株的 BC₂F₁，獲選 20 株進行回交；2014 年 2 期作檢測 241 株的 BC₃F₁，計獲選 17 株並個別自交獲得 BC₃F₂(表四、圖二)。2015 年自 600 個 BC₃F₂ 個體檢測 17 個單株系統呈現抗病型同質結合，*Xa4*、*Xa7* 及 *Xa21* 等 3 個基因皆為抗病型同質結合單株之比例為 2.8%，高於理論值的 1/64，推測因 *Xa4* 與 *Xa21* 同時位於第 11 號染色體(圖三)，兩抗性基因有互相連鎖的效應。

2015 年利用 BC₃F₂ 族群經前景選拔抗病型同質結合的 17 個導入系，進行遍及 12 個染色體之 SNP 定型共超過一萬個位點的背景分析。獲選 17 個系統(編號：CSBB62-1-CSBB62-17)之輪迴親回復率列如表五，由表可知：CSBB62-4 帶有最多(84.5%)、CSBB62-16 帶有最少(72.1%)之輪迴親 TCS10 基因體，皆低於回交 3 次期望值的 93.75%。其中第 2、3、4、5、9 及 10 號染色體的平均回復率皆達 94%以上，第 11 號染色體的平均回復率最低(7.2%)，其中以 CSBB62-5 的 2.1%最小。推測係同樣位在第 11 號染色體的 *Xa4* 及 *Xa21* 被分子標誌篩選時，仍受到連鎖拖曳(linkage drag)的影響^(4,8)。類似此回復率較低的情況，也發生在導入 *Xa7* 基因之第 6 號染色體，其平均回復率為次低的 44.2%。

再由檢測同質結合率結果(表六)，其中最高者為 CSBB62-1 的 97.9%，最低為 CSBB62-14 的 90.3%，導入系之平均同質結合率為 95.4%，顯示基因組已漸趨於穩定。

表四、回交世代利用前景選拔帶有抗病基因數量之個體分布

Table 4. Distribution of individual numbers with resistance gene(s) by foreground selection in backcross generation(s)

Generation	Individual No.	R-gene No.				Year/crop
		Three	Two	One	Null	
BC ₁ F ₁	69	5	24	25	15	2013/II
BC ₂ F ₁	233	20	71	77	65	2014/I
BC ₃ F ₁	241	17	82	90	52	2014/II

表五、17 個導入抗性基因系統於 12 對染色體之輪迴親基因組遺傳回復率

Table 5. The recovery percentage (%) of recurrent parent genome among 17 introgressed lines with resistant genes on 12 chromosomes

Line	Chr1	Chr2	Chr3	Chr4	Chr5	Chr6	Chr7	Chr8	Chr9	Chr10	Chr11	Chr12	Average
CSBB62-1	61.9	97.1	98.9	97.5	97.0	58.4	1.7	94.2	97.2	95.6	3.0	99.4	75.2
CSBB62-2	67.5	98.1	98.9	99.0	99.1	59.9	0.4	96.6	91.1	98.2	31.2	100.0	78.3
CSBB62-3	77.3	96.6	98.7	97.4	97.8	57.3	34.2	93.7	96.7	95.7	26.0	99.1	80.9
CSBB62-4	83.0	98.5	98.5	97.4	97.3	56.9	91.9	93.5	97.2	96.6	4.0	99.0	84.5
CSBB62-5	75.4	98.4	98.8	97.9	98.2	56.8	14.0	93.7	96.4	93.0	2.1	99.2	77.0
CSBB62-6	71.3	95.6	99.0	97.6	97.9	57.0	3.7	95.1	96.7	94.3	3.3	99.3	75.9
CSBB62-7	82.9	96.2	99.0	98.3	98.5	63.9	83.3	93.1	96.2	95.6	2.6	99.4	84.1
CSBB62-8	58.9	97.6	98.6	97.0	97.6	64.3	10.4	93.5	97.1	95.8	3.0	98.7	76.1
CSBB62-9	68.7	97.1	98.9	97.2	97.9	57.6	28.5	93.2	96.3	96.0	6.6	99.1	78.1
CSBB62-10	65.2	95.9	99.1	97.5	97.9	58.0	33.6	94.7	96.5	96.2	9.3	99.2	78.6
CSBB62-11	61.9	98.7	98.7	97.2	97.2	58.1	35.5	96.2	97.2	95.0	3.3	99.3	78.2
CSBB62-12	81.9	98.3	95.3	97.3	71.0	12.1	98.8	26.4	95.7	97.2	3.8	99.3	73.1
CSBB62-13	63.6	98.5	88.3	97.9	97.8	34.6	98.7	94.6	97.2	95.4	2.3	83.2	79.3
CSBB62-14	66.7	98.7	88.2	97.4	98.0	29.2	98.6	91.8	95.8	96.8	10.2	81.9	79.4
CSBB62-15	46.1	98.5	77.4	98.2	86.6	7.0	98.9	91.8	97.6	96.1	4.3	66.3	72.4
CSBB62-16	50.0	98.2	88.1	96.6	86.4	6.8	98.4	57.9	97.7	95.8	4.0	85.1	72.1
CSBB62-17	79.1	98.3	80.7	98.1	96.0	13.5	98.2	94.7	96.7	95.9	3.3	66.6	76.7
Average	68.3	97.7	94.4	97.6	94.8	44.2	54.6	87.9	96.4	95.8	7.2	92.6	77.6

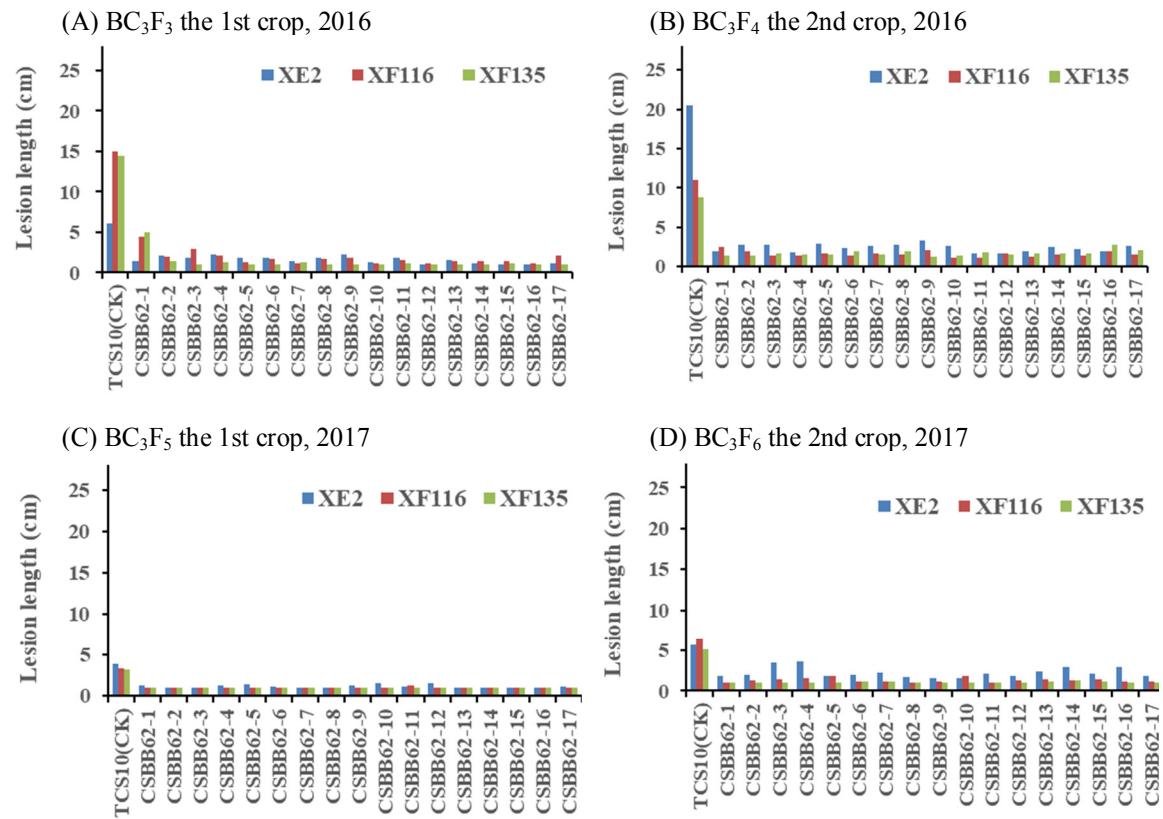
表六、17 個導入抗性基因系統於 12 對染色體之同質結合率

Table 6. The homozygosity (%) among 17 introgressed lines with resistant genes on 12 chromosomes

Line	Chr1	Chr2	Chr3	Chr4	Chr5	Chr6	Chr7	Chr8	Chr9	Chr10	Chr11	Chr12	Average
CSBB62-1	96.6	97.3	99.0	99.0	98.1	96.5	98.7	95.8	99.5	97.6	97.5	99.5	97.9
CSBB62-2	95.0	100.0	99.3	100.0	98.2	99.1	99.3	97.7	95.6	96.4	83.2	100.0	97.0
CSBB62-3	84.0	99.3	99.3	98.9	98.2	99.5	61.7	98.7	97.8	97.1	71.9	99.6	92.2
CSBB62-4	96.7	99.1	99.2	98.6	98.7	99.5	89.8	96.0	98.5	96.2	97.5	99.0	97.4
CSBB62-5	88.4	99.1	99.6	98.8	99.3	99.4	88.5	97.5	98.8	96.0	97.7	99.2	96.8
CSBB62-6	79.3	98.9	99.5	98.9	98.4	99.4	95.1	97.0	98.1	97.2	96.7	99.5	96.5
CSBB62-7	95.1	99.3	99.2	98.6	99.2	90.7	79.8	96.4	98.1	96.0	97.3	99.5	95.8
CSBB62-8	97.3	98.2	98.7	98.5	98.5	92.0	93.6	97.2	99.5	96.6	97.3	99.3	97.2
CSBB62-9	83.5	96.8	99.5	98.7	98.2	99.6	95.3	97.1	97.3	96.3	93.0	99.7	96.2
CSBB62-10	95.5	98.8	99.7	99.1	98.3	99.8	52.5	96.5	98.6	96.9	89.6	99.7	93.7
CSBB62-11	95.2	99.4	99.3	98.8	98.8	100.0	49.5	97.8	98.5	96.7	97.1	99.3	94.2
CSBB62-12	95.2	98.5	94.7	98.3	98.4	95.1	99.0	98.5	98.1	97.6	96.3	99.3	97.4
CSBB62-13	74.0	99.2	87.7	98.7	98.5	70.8	98.6	97.2	98.9	96.3	97.5	81.6	91.6
CSBB62-14	65.2	99.0	88.4	99.0	99.0	73.3	99.2	97.6	98.3	97.2	87.6	80.3	90.3
CSBB62-15	95.3	99.3	99.5	99.2	84.2	99.7	98.5	96.5	99.5	97.4	94.6	99.1	96.9
CSBB62-16	92.7	98.5	92.6	99.6	87.9	100.0	98.7	71.9	99.1	97.1	97.6	87.4	93.6
CSBB62-17	95.6	99.0	92.4	98.9	95.1	91.0	98.6	98.1	99.1	96.3	98.6	99.2	96.8
Average	89.7	98.8	96.9	98.9	96.9	94.4	88.0	95.7	98.4	96.8	93.6	96.5	95.4

二、導入系的抗病檢定表現

利用 2015 年 BC₃F₂ 族群經前景選拔之抗病型同質結合的 17 個導入系，於 2016-2017 年每期作進行逐代(BC₃F₃-BC₃F₆)單株選種外，亦逐代檢定 17 個導入系對接種 3 株菌株的抗感性表現，本試驗以輪迴親 TCS10 為檢定對照品種。由檢定 2016 年第 1 期作(BC₃F₃)、第 2 期作(BC₃F₄)及 2017 年第 1 期作(BC₃F₅)、第 2 期作(BC₃F₆)等 4 個期作結果(圖八)，發現對照 TCS10 對接種 3 株菌株的罹病葉長度於 4 個期作皆大於 17 個導入系，罹病較明顯，導入系多呈現優異的 R 級表現(1 或 1.7)。顯示本試驗經由回交 3 次，每世代由分子標誌進行前景選拔確認 3 個抗性基因導入輪迴親 TCS10，再由 BC₃F₃-BC₃F₆ 之逐代接種反應，驗證 17 個導入系確實具有相當穩定之抗病能力。

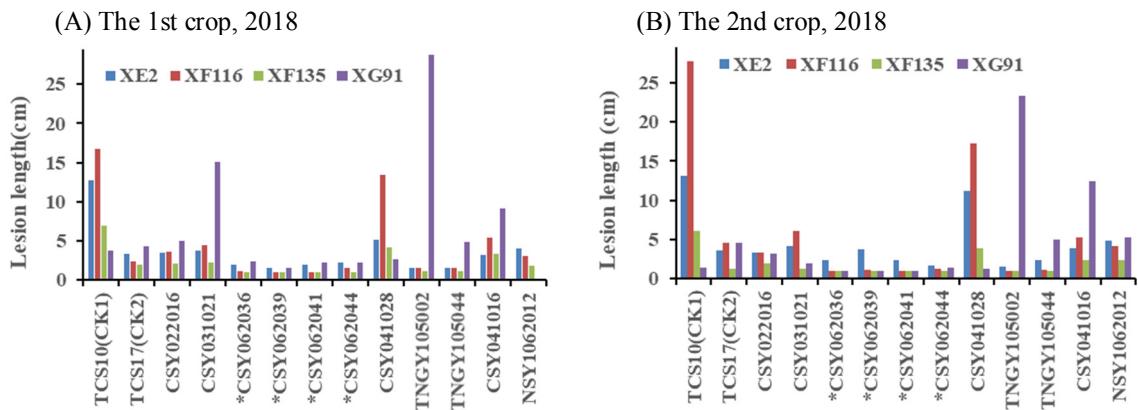


圖八、水稻抗病基因導入系材料於 2016-2017 年接種白葉枯病菌株之田間檢定表現。(A)BC₃F₃，(B)BC₃F₄，(C)BC₃F₅，(D)BC₃F₆。

Fig. 8. The performance of introgressed lines with resistance genes tested by three *Xoo* races in the field in 2016 and 2017. (A)BC₃F₃, (B)BC₃F₄, (C)BC₃F₅, (D)BC₃F₆.

17 個導入系由前述背景篩選及 4 個期作接種檢定與產量評估(下一節)等結果，選出 CSBB62-3、CSBB62-6、CSBB62-8 及 CSBB62-11 等 4 個材料，並分別編號為中秈育 062036 (Chung-sen-yu 062036, CSY062036)、CSY062039、CSY062041 及 CSY062044 等新品系，推薦參加 2018 年度秈稻區域試驗進行評估。2018 年利用前述推薦之 4 個新品系、7 個試驗場所新品系(CSY022016、CSY031021、CSY041028、TNGY105002、TNGY105044、CSY041016、NSY1062012)及 2 個對照品種 TCS10 與台中秈 17 號(TCS17)等 13 個材料，分別於第 1、2 期作接種白葉枯病菌株，檢定抗感性的結果(圖九)，發現此 4 個導入抗病基因之新品系對接種 4 株菌株反應，其罹病葉長度於兩個期作皆甚短，呈現穩定的 R 級。其中對照 TCS10 接種菌株於 2 個期作皆明顯感病，另一對照 TCS17 罷病長度似乎略短，惟另以 DLA 判定 2 個期作係皆呈現 MR 等級。第 1 期作接種菌株 XG91 對 CSY031021、TNGY105002 及 CSY041016 等新品系明顯致病(分別 15、28、9 cm)，菌株 XF116 對 CSY041028

致病(13 cm);第2期作接種菌株XG91仍對TNGY105002及CSY041016明顯致病(分別23及12 cm),CSY041028則對菌株XE2及XF116明顯感病(分別11及17 cm),至於CSY022016及TNGY105044於2個期作均呈現MR等級。整體而言,本試驗顯示導入抗病基因的新品系對接種4株菌株具有穩定優異的R級反應,其他材料則多呈現明顯感病或不抗單一菌株的現象。



圖九、2018年區域試驗材料接種白葉枯病菌株之田間檢定表現。(A)第1期作,(B)第2期作,*導入抗病基因之新品系。

Fig. 9. The performance of regional trial lines tested by 4 *Xoo* races in the field, 2018. (A)1st crop, (B)2nd crop,* the lines introduced resistance genes.

三、導入抗病基因系統的農藝特性及產量表現

同樣利用2015年BC₃F₂族群經前景選拔的17個導入系與輪迴親TCS10,於2016-2017年連續4個期作,進行逐代(BC₃F₃-BC₃F₆)評估農藝特性及稻穀產量的表現。由表七至表十可知,17個導入系於第一、二期作的抽穗日數、株高與產量構成要素等特性與輪迴親TCS10相似,惟之間的產量差異,僅2017年第2期作達到顯著水準,其他3個期作亦未有顯著差異。就不同期作而言,2016年第1期作17個導入系(BC₃F₃)的稻穀公頃產量介於5,824-7,504 kg,其中CSBB62-1等9個系統略有較對照TCS10增產1-9%的潛力(表七);2016年第2期作導入系(BC₃F₄)的產量介於4,645-6,428 kg,其中CSBB62-2、CSBB62-3、CSBB62-12、CSBB62-14及CSBB62-16等5個系統似有較對照增產之潛力(表八);2017年第1期作(BC₃F₅)的表現介於6,048-8,173 kg,多與對照相近(表九);2017年第2期作(BC₃F₆)以CSBB62-2系統的5,112 kg顯著較對照TCS10的4,489 kg增產14%,而CSBB62-15的3,822 kg顯著減產15%,其他系統的表現(介於4,052-4,952 kg)則與對照TCS10之間未有顯著差異(表十)。

表七、水稻抗白葉枯病基因 BC₃F₃導入系的農藝特性及產量表現(2016年第一期作)Table 7. The performance of agronomic traits and yield components in BC₃F₃ lines with resistance genes to bacterial blight in the first crop, 2016

Line	HD*	PL (cm)	PN	SN	FR (%)	GW (g)	Yield	
							(kg/ha)	(%)
CSBB62-1	83	27.7	12	168	81	26.3	7,504 ^{NS}	109
CSBB62-2	82	27.3	12	169	80	27.4	5,824	85
CSBB62-3	82	28.8	9	189	84	26.6	7,341	107
CSBB62-4	81	28.7	11	191	85	26.8	7,239	105
CSBB62-5	84	26.9	14	174	83	27.5	7,025	102
CSBB62-6	82	27.1	10	186	80	26.3	6,460	94
CSBB62-7	81	28.3	10	178	83	27.6	6,952	101
CSBB62-8	81	27.4	12	189	82	27.3	7,324	106
CSBB62-9	81	27.8	10	171	81	28.2	6,439	94
CSBB62-10	81	27.7	8	173	82	28.6	6,388	93
CSBB62-11	82	27.4	11	168	82	28.1	7,034	102
CSBB62-12	80	28.1	13	171	82	27.9	6,473	94
CSBB62-13	80	26.0	10	190	81	25.1	7,166	104
CSBB62-14	81	27.8	12	190	83	25.5	5,988	87
CSBB62-15	80	27.0	12	189	85	24.9	7,109	103
CSBB62-16	82	27.9	10	162	82	26.1	6,185	90
CSBB62-17	89	26.0	13	170	84	26.5	6,626	96
TCS10(CK)	85	28.5	12	189	79	27.0	6,879	100

*HD: heading date; PL: panicle length; PN: panicle number per hill; SN: spikelet number per panicle; FR: fertility rate; GW: 1000-grain weight.

^{NS} Non-significant among 18 lines by F-test of ANOVA at 5% level.

由 17 個導入系之背景篩選、4 個期作抗病檢定及農藝特性與產量評估等結果，選出 CSBB62-3、CSBB62-6、CSBB62-8 及 CSBB62-11 等系統進行下一階段區域試驗之新品系比較。前述材料於 BC₃F₃-BC₃F₆ 等 4 個期作之農藝特性結果(表七-表十)，可知：(1)抽穗日數於第 1 期作介於 81-83 天，對照 TCS10 為 81-85 天、第 2 期作介於 60-64 天，TCS10 為 61-65 天；(2)株高於第 1 期作介於 106-118 cm，TCS10 為 113 cm、第 2 期作介於 110-114 cm，TCS10 為 110 cm；(3)穗長於第 1 期作介於 19.2-28.8 cm，TCS10 為 24.7-28.5 cm、第 2 期作介於 24.0-27.3 cm，TCS10 為 26.2-27.5 cm；(4)每株穗數於第 1 期作 9-19 支，TCS10 為 12-17 支、第 2 期作 10-15 支，TCS10 為 11-14 支；(5)每穗粒數於第 1 期作 106-189 粒，TCS10 為 112-189 粒、第 2 期作 120-157 粒，TCS10 為 143-155 粒；(6)千粒重第

1期作介於 25.0-28.1 g，TCS10 為 25.0-27.0 g、第 2 期作 23.9-27.5 g，TCS10 為 23.6-25.3 g。綜觀此 4 個導入系統在農藝特性與產量構成要素的表現，與其輪迴親 TCS10 相近，表示本試驗經由分子標誌輔助回交育種過程，這些導入系並無伴隨抗病基因而有明顯之農藝性狀的損失。

表八、水稻抗白葉枯病基因 BC₃F₄導入系的農藝特性及產量表現(2016 年第二期作)

Table 8. The performance of agronomic traits and yield components in BC₃F₄ lines with resistance genes to bacterial blight in the second crop, 2016)

Line	HD*	PL (cm)	PN	SN	FR (%)	GW (g)	Yield	
							(kg/ha)	(%)
CSBB62-1	66	24.3	13	118	86	26.1	5,873 ^{NS}	109
CSBB62-2	65	24.1	14	124	88	25.3	6,192	115
CSBB62-3	63	24.0	15	120	85	25.3	6,244	116
CSBB62-4	63	24.1	13	121	80	25.2	5,676	106
CSBB62-5	64	24.8	12	131	89	27.1	5,850	109
CSBB62-6	64	24.2	10	120	86	25.2	5,797	108
CSBB62-7	64	24.9	12	126	89	26.7	5,452	101
CSBB62-8	64	24.6	14	125	88	26.4	5,781	108
CSBB62-9	64	24.9	16	116	84	25.6	5,261	98
CSBB62-10	63	25.6	13	130	89	26.4	4,645	86
CSBB62-11	63	24.3	12	130	87	27.5	5,843	109
CSBB62-12	63	24.3	14	141	89	25.6	6,428	120
CSBB62-13	65	24.8	10	132	87	25.0	4,991	93
CSBB62-14	64	24.4	13	116	80	27.4	6,003	112
CSBB62-15	63	23.6	12	116	82	24.4	5,136	96
CSBB62-16	64	25.0	14	140	87	25.1	5,953	111
CSBB62-17	64	24.3	11	150	81	24.4	5,880	109
TCS10(CK)	65	26.2	11	143	78	25.3	5,375	100

*HD: heading date; PL: panicle length; PN: panicle number per hill; SN: spikelet number per panicle; FR: fertility rate; GW:1000-grain weight.

^{NS} Non-significant among 18 lines by F-test of ANOVA at 5% level.

表九、水稻抗白葉枯病基因 BC₃F₅導入系的農藝特性及產量表現(2017年第一期作)Table 9. The performance of agronomic traits and yield components in BC₃F₅ lines with resistance genes to bacterial blight in the first crop, 2017)

Line	HD*	PH	PL	PN	SN	FR	GW	Yield	
	(day)	(cm)	(cm)			(%)	(g)	(kg/ha)	(%)
CSBB62-1	84±0.7 [#]	112±4	24.5±0.3	17±2	119± 7	87±1	26.2±0.2	7,202 ^{NS}	91
CSBB62-2	82±2.8	114±3	23.5±0.1	16±2	108± 4	85±2	25.7±0.3	7,721	97
CSBB62-3	83±4.2	110±4	24.0±0.9	16±3	115±19	85±2	25.4±0.4	8,173	103
CSBB62-4	80±0.0	115±2	23.8±0.8	16±3	117±17	82±1	25.8±0.7	6,503	82
CSBB62-5	83±2.1	115±1	23.8±0.6	16±0	112± 8	85±2	26.4±0.2	7,548	95
CSBB62-6	81±1.4	106±2	19.2±0.8	16±2	106± 6	85±3	26.0±0.1	6,048	76
CSBB62-7	83±4.2	115±3	24.0±0.3	18±2	118± 2	83±1	26.0±0.3	7,413	93
CSBB62-8	82±1.4	111±4	23.8±0.4	17±1	107± 7	83±1	25.0±0.6	7,753	97
CSBB62-9	83±2.1	114±1	24.3±0.5	16±1	112± 9	85±1	25.9±0.7	7,761	98
CSBB62-10	83±1.4	114±6	24.5±1.1	16±1	120±14	86±1	26.1±0.9	8,077	102
CSBB62-11	82±0.0	118±1	23.8±0.3	19±1	108± 5	85±2	26.2±0.3	8,078	102
CSBB62-12	80±0.0	115±3	24.8±0.3	16±2	118± 2	86±1	25.2±0.4	7,996	101
CSBB62-13	81±1.4	110±3	24.3±0.2	16±1	129± 8	82±2	25.0±0.7	7,719	97
CSBB62-14	80±1.4	106±1	23.3±0.5	17±1	107± 6	82±3	24.9±0.4	7,138	90
CSBB62-15	80±1.4	102±3	23.0±0.4	18±0	111±15	85±1	24.2±0.7	7,458	94
CSBB62-16	81±1.4	103±1	23.4±0.1	16±1	121±14	86±1	24.5±0.3	7,891	99
CSBB62-17	84±0.7	103±3	23.6±0.5	18±1	124±14	85±1	25.0±0.4	8,069	101
TCS10(CK)	81±1.4	113±1	24.7±1.0	17±2	112± 4	87±2	25.0±1.0	7,956	100

*HD: heading date; PH: plant height; PL: panicle length; PN: panicle number per hill; SN: spikelet number per panicle; FR: fertility rate; GW: 1000-grain weight.

[#]Data shown mean ± standard error (n=3).

^{NS} Non-significant among 18 lines by F-test of ANOVA at 5% level.

表十、水稻抗白葉枯病基因 BC₃F₆導入系的農藝特性及產量表現(2017年第二期作)Table 10. The performance of agronomic traits and yield components in BC₃F₆ lines with resistance genes to bacterial blight in the second crop, 2017)

Line	HD*	PH (cm)	PL (cm)	PN	SN	FR (%)	GW (g)	Yield	
								(kg/ha)	(%)
CSBB62-1	63±1.0 [#]	111±1	26.8±1.3	14±1	156±15	69±4	24.6±0.2	4,952	ab [#] 110
CSBB62-2	62±1.2	113±1	26.7±0.3	14±2	154±15	71±4	23.5±1.4	5,112	a 114
CSBB62-3	60±1.0	110±2	26.8±0.4	13±2	147±13	71±3	23.9±0.1	4,919	ab 110
CSBB62-4	60±0.6	112±3	26.9±0.6	14±1	150± 6	69±6	24.2±03	4,763	abcd 106
CSBB62-5	60±0.6	113±3	26.8±0.5	12±1	147± 9	67±4	24.2±0.8	4,732	abcd 105
CSBB62-6	62±1.2	114±2	26.4±0.3	12±1	157±10	70±2	24.6±0.4	4,820	abc abcd 107
CSBB62-7	61±1.2	114±2	27.4±0.4	12±2	150± 9	64±3	24.7±0.4	4,610	e 103
CSBB62-8	64±0.6	113±4	27.3±0.2	14±2	157±11	63±3	24.0±0.3	4,467	bcde abcd 100
CSBB62-9	63±0.6	115±3	27.2±0.6	16±3	146± 8	65±1	24.4±0.8	4,530	e 101
CSBB62-10	60±1.5	114±1	26.9±0.6	12±2	159±10	72±3	24.7±0.3	4,711	abcd 105
CSBB62-11	61±0.6	114±2	27.1±0.8	13±1	157±22	68±2	24.6±0.4	4,756	abcd 106
CSBB62-12	61±1.5	112±6	27.7±0.4	13±1	146±12	60±5	23.5±0.1	4,399	bcd 98
CSBB62-13	61±0.6	110±6	26.8±0.1	13±2	172±14	62±6	23.3±0.4	4,785	abc 107
CSBB62-14	61±1.7	106±3	26.2±0.5	14±1	154±24	59±2	22.8±0.2	4,247	cdef 95
CSBB62-15	62±1.2	102±3	26.7±0.7	15±0	160± 5	51±5	22.2±0.8	3,822	f 85
CSBB62-16	62±1.5	105±0	27.2±0.2	16±2	152±13	56±6	22.9±0.8	4,173	def 93
CSBB62-17	64±2.0	102±5	26.6±0.2	14±3	145±12	61±7	22.6±0.5	4,052	ef 90
TCS10(CK)	61±0.6	110±1	27.5±0.5	14±3	155± 7	65±4	23.6±0.4	4,489	bcde 100

*HD: heading date; PH: plant height; PL: panicle length; PN: panicle number per hill; SN: spikelet number per panicle; FR: fertility rate; GW: 1000-grain weight.

[#]Data shown mean ± standard error (n=3).

[#]Means followed by a common letter are not significantly different by Fisher's protected LSD test (P<0.05).

討 論

水稻台中秈 10 號(TCS10)係 1979 年命名品種，至今仍為政府唯一推薦的秈稻推廣品種。秈稻品種因容易感染白葉枯病而減損產量與品質，致其栽培面積逐年下降。此期間農試改良機構雖陸續培育新品種，惟推出的品種仍普遍不抗白葉枯病，主要係缺乏適當可利用對抗流行菌株的種原。另一方面，選育聚合多個 R 基因品種應是提升抗病能力的最佳策略，然而抗病性的遺傳多具有顯性與上位性作用，即使以傳統雜交或回交選育出抗病品種，仍難以確認是否堆疊多個 R 基因⁽³¹⁾。因此針對本病害之抗病育種首要應蒐集國內外的抗病種原，接續檢定種原對當前流行菌株之抗病性，利用抗病種原進行雜交、回交之操作，並結合分子標誌選種與外表型檢定流程，以確認導入抗病基因與抗病性⁽¹⁰⁾。目前全球已有許多以回交操作輔以分子標誌導入數個抗病基因，育成具有優異抗病性的水稻品種^(17,21,31,32)。國內針對本病害之分子輔助抗病育種，僅見中興大學農藝學系王強生教授的團隊針對梗稻進行研究並育成抗病品種，因此本研究應是首篇有關秈稻抗病育種之報導。

水稻白葉枯病係我國重要的稻作流行病害，一般認為種植具持久抗病品種是最好的解決方案^(10,17,22)，惟國內多年檢定各農業試驗機構之具潛力品系及命名品種對白葉枯病抵抗性結果，甚少發現具有抗病性的材料⁽¹¹⁾。近年各農業試驗機構與 IRRI 及國內大學院校合作之下，由於各項具抗(耐)逆境基因材料的引進及分子標誌輔助選種技術的發展，國內各項抗逆境水稻材料的研發日益蓬勃發展^(3,4)。惟對於導入有效的抗病基因而言，有必要對現有白葉枯病菌株進行抗性種原的評估^(5,10,22)。因此，本研究首先檢定引自 IRRI 帶有不同抗病基因(R 基因)之 NILs 對本土菌株的抗感性表現，接續進行 R 基因導入秈稻 TCS10 的分子輔助回交育種，以改良其抗白葉枯病的能力。

本試驗進行白葉枯病之抗感性檢定，係利用農試所收集自中部地區的菌株進行接種，檢定使用的 XF89b 等 6 株菌株均屬於第一群病原型，惟其之間的致病力仍有些許差異。檢定 19 個 NILs 中，有 8 個僅具單一 R 基因，其餘 11 個則聚合 2-5 個 R 基因，經由 18 次抗感性檢定的結果(露天 4 期作、溫室 2 期作、每期作接種 3 株菌株)顯示，IRBB50(2 個 R 基因)、IRBB54(2 個 R 基因)、IRBB62(3 個 R 基因)、IRBB64(4 個 R 基因)、IRBB65(4 個 R 基因)及 IRBB66(5 個 R 基因)等 NILs 皆表現抗或中抗(等級 1 或 3)之優異穩定抗性，其餘 13 個 NILs 則至少有 1 次或多次呈現中感-極感(等級 5-9)的罹病(圖七)。本研究與前人研究成果一致，所有單基因(*Xa4*、*xa5*、*Xa7*、*xa8*、*Xa11*、*xa13*、*Xa14* 或 *Xa21*)之 NILs 多呈現中感-極感等級反應，表示僅有 1 個 R 基因不易有效對抗菌株^(17,22)，其中又以 *xa8*、*Xa11*、*xa13* 或 *Xa14* 基因極易感病(圖四)，而 *Xa4*、*xa5*、*Xa7* 或 *Xa21* 基因之表現似乎仍有一些抵抗性(呈現抗與中抗級合計次數分別有 10、12、14、14 次)。國內早期針對接種當時流行菌株之研究，指出 *Xa4*、*xa5* 及 *Xa7* 等基因之抗性表現較佳^(12,14)，惟本試驗結果(圖五)顯示這些單一基因已不足以完全抵抗現有流行菌株。

本試驗顯示引進 IRRI 帶有堆疊 *Xa4*、*xa5*、*Xa7* 或 *Xa21* 任 1 基因之近同源系，大多具有甚佳之抗病性。檢定堆疊基因的 NILs 有 2 種隱性基因，其中 *xa5* 與其他基因結合者多具有優異抗病能

力，推測 *xa5* 具有部分顯性及增強 *Xa4* 與 *Xa21* 基因抗病性的交感效應⁽²⁵⁾，如本試驗檢定 IRBB50(*Xa4/xa5*)及 IRBB54(*xa5/Xa21*)之結果呈現抗-中抗等級的優異表現(圖七)。然而，由 IRBB51(*Xa4/xa13*)呈現 4 次中感(等級 5)及 2 次感級(等級 7)的抗病效果不佳而言，由其組合之 R 基因各別表現(*Xa4* 感病 8 次、*xa13* 感病 15 次)，顯示本土菌株對 *xa13* 極易致病，雖組合 2 個基因仍未具良好抗性，惟當 *xa13* 組合 3 個以上基因時則具有良好抗性，如 IRBB63(3 個 R 基因)、IRBB60(4 個 R 基因)、IRBB65(4 個 R 基因)及 IRBB66(5 個 R 基因)等材料。整體而言，堆疊 2 個 R 基因以上的材料較單一 R 基因者具有廣幅抗性，意味 R 基因之間具有增效(synergism)與互補(complementation)的效果^(21,31)，前述 IRBB50、IRBB54、IRBB62、IRBB64、IRBB65 及 IRBB66 等堆疊基因材料可有效對抗本土菌株，建議可作為改善國內水稻品種對抗白葉枯病之育種材料。

為了提升 TCS10 抗白葉枯病的抗性，本試驗利用檢定抗病優異的 IRBB62 為貢獻親，在每次回交世代皆利用抗病基因前景篩選成功堆疊 3 個 R 基因(*Xa4/Xa7/Xa21*)於 TCS10 之回交後裔。綜觀許多分子輔助選種試驗^(4,31,32)，多利用兩親之間具有多型性的分子標誌，同時進行背景選拔來自輪迴親基因組較大貢獻的後裔個體，做為下一世代回交輪迴親的父本，最終獲得輪迴親背景回復率較高的個體。本試驗由 BC₃F₂族群篩選確認導入 R 基因之 17 株個體，經分析其遺傳背景之輪迴親回復率僅達 72.1-84.5%，低於回交 3 次期望值的 93.75%。本結果應係雜交組合之兩親(IRBB62、TCS10)均為秈稻材料，未有相關多型性的分子標誌可參考製作，因而回交世代未進行背景篩選。其中第 2 及第 4 號染色體回復率皆達 97%以上之偏向輪迴親，而第 1、6、7 及 11 號染色體呈現偏低之回復率，表示受到貢獻親的影響甚大，尤其是第 11 號染色體平均僅保留 7.2%的輪迴親回復率(表五)，此現象應係選拔同樣位於第 11 號染色體之 *Xa4* 及 *Xa21* 基因(圖三)的連鎖拖曳^(4,8)所致，至於回復率次低之第 6 號染色體(44.2%)應亦是選拔 *Xa7* 的結果。惟此 17 株導入系經連續 4 個期作接種菌株檢定及農藝特性之綜合評估，這些導入系確實已具穩定抗病能力(圖八)，且其農藝性狀及產量表現與對照 TCS10 相當(表七-表十)。意味本試驗經由分子標誌輔助回交育種操作，這些導入系的農藝性狀與產量表現亦與輪迴親相似，導入系並無伴隨抗病基因而有明顯之農藝性狀的損失^(31,32)。

本試驗係為改善水稻台中秈 10 號之抗白葉枯病能力，惟本品種具有優良米質特性，其米飯軟黏 Q 彈的食用品質仍受到臺灣民眾的歡迎。一般認為稻米食用品質與直鏈澱粉含量(amylose content, AC)、糊化溫度(gelatinization temperature, GT)及膠體軟硬度(gel consistency, GC)等 3 個理化特性有關。AC 受到第 6 條染色體之 *Wx* 基因控制，GT 亦主要受到第 6 條染色體上 *Alk* 基因控制，影響 GC 的基因座則與 *Wx* 基因連鎖^(26,33)，暗示此 3 個米質理化特性受到 *Wx* 基因之連鎖基因組區域的控制。本試驗分析獲選 17 株導入系之遺傳背景，其中第 6 號染色體之平均回復率僅 44.2%，表示仍保有貢獻親半數以上之基因組，是否影響抗病基因導入系之食用品質，後續仍宜進行米質特性評估。本試驗建立具抗病基因之水稻 TCS10 近同源系，應可作為國內秈稻育種之基礎材料，以導入秈稻產業亟須的抗飛蟲基因或是具有國際市場潛力的香味基因。

誌謝

本試驗承行政院農業委員會科技處與動植物防疫檢疫局歷年之計畫經費支持(102 農科-14.1.2-中-D2、108 農科-8.4.4-中-D1)及本場稻作米質研究室與生物技術暨農產加工研究室鼎力協助，謹此致謝。

參考文獻

1. 王子明、胡澤寬、王強生 2005 水稻抗病及防禦反應基因的全基因組分析 作物、環境與生物資訊 2: 267-281。
2. 林金樹、張素貞 1992 水稻抗白葉枯病之研究 I.新品系對不同病原群之反應 臺中區農業改良場研究彙報 35: 25-31。
3. 林昆鴻、郭介煒、許育嘉、林彥蓉、吳永培 2014 運用分子標幟輔助選拔提昇水稻「台梗九號」品種之耐旱性 作物、環境與生物資訊 11: 177-194。
4. 陳正昇、陳榮坤、金漢煊、林彥蓉 2010 以分子輔助選種導入 *hd1*、*Hd6* 和 *ehd1* 抽穗期基因至水稻越光品種 作物、環境與生物資訊 7: 1-20。
5. 陳純葳、吳東鴻、楊嘉凌、張素貞 2014 國際稻米研究所水稻白葉枯病抗性檢定評估 農業試驗所技術服務季刊 97: 19-23。
6. 陳隆澤、黃守宏、鄭清煥 2009 水稻病蟲害抗性檢定工作回顧 p.83-103 台灣水稻保護成果及新展望研討會專刊 農業試驗所特刊第 138 號。
7. 曾雅君、楊喬安、王子明、林大鈞、曾文彬、陳純葳、楊嘉凌、王強生 2013 水稻抗白葉枯病標誌輔助選拔系統之建立與回交子代之篩選 p.81-93 良質米研究團隊研發成果研討會專輯 臺中區農業改良場特刊第 115 號。
8. 張瑞忻、鄭佳綺、楊嘉凌、郭建志 2016 分子標誌輔助水稻台梗 9 號之抗白葉枯病回交育種 臺中區農業改良場研究彙報 133: 33-46。
9. 張義璋、謝麗娟 1999 抗臺灣地區白葉枯病之稻品種篩選 中華農業研究 48: 101-109。
10. 楊嘉凌、吳東鴻、陳純葳、朱盛祺、王強生、張素貞 2013 臺灣水稻抗白葉枯病研究回顧與育種策略 p.143-154 良質米產業發展研討會專輯 臺中區農業改良場特刊第 119 號。
11. 楊嘉凌 2015 帶有抗白葉枯病基因水稻材料之檢定評估 p.14-21 103年度臺中區農業改良場科技計畫研究成果發表會論文輯 臺中區農業改良場特刊第 129 號。
12. 謝式坪鈺 2003 水稻白葉枯病 p.325-340 植物保護圖鑑系列 行政院農委會動植物防檢局，臺北市。
13. 謝麗娟、張義璋、謝廷芳 2005 水稻白葉枯病抗病檢定方法之改良 台灣農業研究 54: 15-22。

14. 簡錦忠、謝麗娟 1989 水稻白葉枯病原群之研究 I .判別品種探討 中華農業研究 38: 216-228。
15. Arif, M., M. Jaffar, M. Babar, M. A. Sheikh, S. Kousar, A. Arif and Y. Zafar. 2008. Identification of bacterial blight resistance gene *Xa4* in Pakistani rice germplasm using PCR. Afr. J. Biotechnol. 7: 541-545.
16. Chen, S., Z. Huang, L. Zeng, J. Yang, Q. Liu and X. Zhu. 2008. High-resolution mapping and gene prediction of *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* resistance gene *Xa7*. Mol. Breed. 22(3): 433-441.
17. Huang, N., E. R. Angeles, J. Domingo, G. Magpantay, S. Singh, G. Zhang, N. Kumaravadivel, J. Bennett and G. S. Khush. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. Theor. Appl. Genet. 95: 313-320.
18. INGER Genetic Resources Center. 1996. Standard Evaluation System for Rice. p.1-52. 4th ed. IRRI, Philippines.
19. Jeung, J. U., S. G. Heu, M. S. Shin, C. M. Vera Cruz and K. K. Jena. 2006. Dynamics of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* populations in Korea and their relationship to known bacterial blight resistance genes. Phytopathology 96: 867-875.
20. Jiang, N., J. Yan, Y. Liang, Y. L. Shi, Z. Z. He, Y. T. Wu, Q. Zeng, X. L. Liu and J. H. Peng. 2020. Resistance genes and their interactions with bacterial blight/leaf streak pathogens (*Xanthomonas oryzae*) in rice (*Oryza sativa* L.)- an updated review. Rice 13: 3.
21. Joseph, M., S. Gopalakrishnan, R. K. Sharma, V. P. Singh, A. K. Singh, N. K. Singh and T. Mohapatra. 2004. Combining bacterial blight resistance and basmati quality characteristics by phenotypic and molecular marker-assisted selection in rice. Mol. Breed. 13(4): 377-387.
22. Khan, J. A., H. M. I. Arshad, K. Saleem, A. F. Sandhu, S. Hasnain and M. M. Babar. 2012. Evaluation of resistance genes in rice against local isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Punjab Province of Pakistan. Arch. Phytopathology Plant Protect. 45: 1826-1839.
23. Khush, G. S., E. Bacalangco and T. Ogawa. 1990. A new gene for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. Rice Genet. Newsl. 7: 121-122.
24. Kim, S.M. and R.F. Reinke. 2019. A novel resistance gene for bacterial blight in rice, *Xa43(t)* identified by GWAS, confirmed by QTL mapping using a bi-parental population. PLoS ONE 14(2): e0211775.
25. Li, Z. K., A. Sanchez, E. Angeles, S. Singh, J. Domingo, N. Huang and G. S. Khush. 2001. Are the dominant and recessive plant disease resistance genes similar ?: A case study of rice R genes and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* races. Genetics 159: 757-765.
26. Li, Z., J. Wan, J. Xia and M. Yano. 2003. Mapping of quantitative trait loci controlling

- physico-chemical properties of rice grains (*Oryza sativa* L.). Breed. Sci. 53: 209-215.
27. Ma, B. J., W. M. Wang, B. Zhao, Y. L. Zhou, L. H. Zhu and W. X. Zhai. 1999. Studies of PCR marker for the rice bacterial blight resistance gene *Xa-4*. Hereditas (Beijing) 21: 9-12.
28. Ogawa, T., Y. Yamamoto, G. S. Khush and T. W. Mew. 1991. Breeding of near-isogenic lines of rice with single genes for resistance to bacterial blight pathogen (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*). Jpn. J. Breed. 41: 523-529.
29. Pradhan, S. K., S. R. Barik , D. K. Nayak , A. Pradhan , E. Pandit , P. Nayak , S. R. Das and H. Pathak. 2020. Genetics, molecular mechanisms and deployment of bacterial blight resistance genes in rice. Crit. Rev. Plant Sci. 39: 360-385.
30. Singh, S., J.S. Sidhu, N. Huang, Y. Vikal, Z. Li, D.S. Brar, H.S. Dhaliwal and G.S. Khush. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. Theor. Appl. Genet. 102: 1011-1015.
31. Suh, J. P., J. U. Jeung, T. H. Noh, Y. C. Cho, S. H. Park, H. S. Park, M. S. Shin, C. K. Kim and K. K Jena. 2013. Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice. Rice 6: 5.
32. Sundaram, R. M., M. R. Vishnupriya, S. K. Biradar, G. S. Laha, G. A. Reddy, N. S. Rani, N. P. Sarma and R.V. Sonti. 2008. Marker assisted introgression of bacterial blight resistance in Samba Mahsuri, an elite indica rice variety. Euphytica 160: 411-422.
33. Wan, X. Y., J. M. Wan, C. C. Su, C. M. Wang, W. B. Shen, J. M. Li, H. L. Wang, L. Jiang, S. J. Liu, L. M. Chen, H. Yasui and A. Yoshimura. 2004. QTL detection for eating quality of cooked rice in a population of chromosome segment substitution lines. Theor. Appl. Genet. 110: 71-79.
34. Williams, C.E., B. Wang, T.E. Holsten, J. Scambray, F. de A. G. da Silva and P.C. Ronald. 1996. Markers for selection of the rice *Xa21* disease resistance gene. Theor. Appl. Genet. 93: 1119-1122.
35. Yoshimura, S., A. Yoshimura, N. Iwata, S. R. McCouch, M.L. Abenes, M. R. Baraoidan, T. W. Mew and R. J. Nelson. 1995. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. Mol. Breed. 1: 375-387.
36. Zhang, Q. and T.W. Mew. 1985. Adult-plant resistance of rice cultivars to bacterial blight. Plant Dis. 69: 896-898.

Development of New Indica-type Rice Lines with Resistance to Bacterial Blight¹

Jia-Ling Yang ², Chia-Chi Cheng ³ and Yi-Chien Wu ³

ABSTRACT

Bacterial blight (BB) caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* has been an important rice disease in Taiwan. Taichung sen 10 (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*, TCS10) is recommended the only one indica-type variety with excellent palatability and high yield by Taiwan government but highly susceptible to BB. To breed a resistant variety is the most effective way to prevent the disease. The purposes of present experiment firstly were to survey the performance of 19 near-isogenic lines (NILs) with resistance genes (*Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa13* or *Xa21*) from IRRI. The NILs with more than two resistance genes had superior resistant reaction to BB, and 6 NILs (IRBB50, IRBB54, IRBB62, IRBB64, IRBB65 and IRBB66) with excellent resistance could be regarded as breeding materials to improve the resistance. In the meantime, marker-assisted backcross was conducted by using IRBB62 as the donor parent (DP) and TCS10 as the recurrent parent (RP). Each generation from F₁ to BC₃F₂, the foreground selection was based on detecting three resistance genes (*Xa4/Xa7/Xa21*), and consequently 17 out of 600 BC₃F₂ individuals were verified carrying R-gene. The 17 NILs had superior resistant reactions to BB while inoculating the local *Xoo* strains through 4 crop continuously, and their agronomic traits and yield components were similar to the RP, TCS10. Four superior lines from 17 NILs were chosen for the evaluation of the indica-type rice lines in regional trials. Results showed that the 4 new lines had better and stable resistance to BB. One of the 4 new lines had the potential to be named a new cultivar and to be utilized for the rice industry in Taiwan.

Key words: indica rice Taichung sen 10, bacterial blight, resistance genes, marker-assisted selection.

¹ Contribution No.0993 from Taichung DARES, COA.

² Researcher and Chief of Agricultural Extension Division of Taichung DARES.

³ Assistant Researcher of Taichung DARES.